



# 乙型肝炎病毒核酸测定试剂盒（RNA 捕获探针法）

## 说明书

### 【产品名称】

通用名称：乙型肝炎病毒核酸测定试剂盒（RNA 捕获探针法）

### 【包装规格】

100 人份/套

### 【预期用途】

本产品用于定量检测人血清样本中的乙型肝炎病毒（HBV）RNA。

已有研究数据显示，外周血血清中 HBV RNA 可反应肝内 HBV 病毒的转录活性，在部分血清 HBV DNA 低于检测下限的样本中，HBV RNA 仍可以被检测到。同时，在 Peg-IFN- $\alpha$  治疗中，血清 HBV RNA 可辅助作为 HBeAg 的血清转换预测的指标之一，血清 HBV RNA 结果为阴性，需要结合其他指标共同用于指导 Peg-IFN- $\alpha$  的治疗。该检测结果不得作为患者病情评价的唯一指标，必须结合患者临床表现和其他实验室检测对病情进行综合分析。本试剂盒不得用于 HBV 的血液筛查。

### 【检验原理】

本试剂盒的乙型肝炎病毒核酸定量检测分为核酸捕获和实时荧光核酸恒温扩增检测。

核酸捕获是通过病毒核酸提取液中的磁性颗粒特异捕获靶标 RNA，形成磁性颗粒和靶标 RNA 的复合物，通过磁场将该复合物从样本中分离出来，再使用洗涤液对磁性颗粒清洗，获得纯净的磁性颗粒和靶标 RNA 的复合物。该磁性颗粒和靶标 RNA 的复合物进入扩增检测体系。

实时荧光核酸恒温扩增检测（Simultaneous Amplification and Testing, SAT）是一种 RNA 转录扩增同时使用探针实时检测的方法。带有 T7 序列的引物与靶标 RNA 结合，在反转录酶 M-MLV 作用下产生靶标核酸（RNA）的 DNA 拷贝；T7 RNA 聚合酶以 DNA 拷贝为模板产生多个 RNA 产物。产物 RNA 拷贝可以继续作为模板逆转录出新的 DNA 拷贝，继续转录出更多的 RNA 产物。在循环扩增的同时，反应体系内的特异性探针可以与 RNA 产物结合。探针上标记有荧光基团和淬灭基团，探针未与 RNA 产物结合时淬灭基团与荧光基团非常接近，抑制荧光产生；当探针与 RNA 产物结合时，淬灭基团与荧光基团分离，荧光基团发出荧光信号。RNA 产物越多，与产物杂交的探针就越多，发出的荧光信号就越强。检测仪器可以实时检测到发出的荧光信号。荧光信号到达特定阈值的反应时间与靶标 RNA 起始浓度成比例。每个反应都有内标（IC），用于质控样本在处理、扩增和检测期间的变化差异。样本的浓度由软件根据每个反应的靶标检测信号和 IC 信号与内置校准信息进行比较后确定。

### 【主要组成成份】

#### 试剂 A

| 组成成分    | 100 人份/套 | 主要成分         |
|---------|----------|--------------|
| 病毒核酸提取液 | 1×25mL   | 内标、捕获探针、磁性颗粒 |
| 洗涤液     | 1×150mL  | 0.1%SDS      |
| 矿物油     | 1×18mL   | 矿物油          |

#### 试剂 B

| 组成成分    | 100 人份/套 | 主要成分                    |
|---------|----------|-------------------------|
| 扩增检测液 1 | 1×5.0 mL | 引物、dNTPs 和 NTPs         |
| 扩增检测液 2 | 1×4.5 mL | 引物、dNTPs 和 NTPs 荧光探针    |
| 酶液      | 1×4.0mL  | 反转录酶，T7 聚合酶             |
| 阳性校准物   | 1×3.0 mL | 含 HBVRNA 目的片段的病毒样颗粒及稳定剂 |
| 阴性质控品   | 1×1.5 mL | 阴性血清                    |
| 低阳性质控品  | 1×1.5 mL | 含 HBVRNA 目的片段的病毒样颗粒及稳定剂 |
| 高阳性质控品  | 1×1.5mL  | 含 HBVRNA 目的片段的病毒        |

|       |   | 样颗粒及稳定剂 |
|-------|---|---------|
| 批次信息码 | 1 | /       |

注：请勿互换、混合或合并不同批号的试剂盒中的试剂。

检测过程中仪器配套使用的石蜡及耗材未提供，需要咨询厂家采购，检测前请确保耗材满足试验需要。

### 【储存条件及有效期】

储存条件：试剂 A：2~8℃储存，试剂 B：-35~-15℃储存（扩增检测液 2 避光保存），试剂盒有效期 12 个月。

打开包装使用后的试剂盒可于 2~8℃存放 7 天，反复冻融不超过 3 次。冰袋、干冰加泡沫箱在 20℃以下运输不超过 6 天。

生产日期及有效期至：详见试剂盒外包装。

### 【适用仪器】

本试剂适用于全自动核酸检测分析系统（AutoSAT）。

### 【样本要求】<sup>[1]</sup>

1.适用样本类型：人血清样本

2.样本采集

2.1 血清样本采集

抽取受检者静脉血 2~5mL，收集于不含添加剂的采血管或者含促凝剂的采血管中，室温（15~30℃）放置 30~60 分钟，1500rpm~2000rpm 离心 5 分钟，使血细胞和血清充分分离，该样本管可直接置于仪器样本架，作为待测样本。

2.3 单次检测待测样本体积不少于 400μL，检测实际取样量 250μL。

3.保存：收集的样本应在 8 小时内完成血清分离及上机检测；8 小时内无法立即进行检测的，应在 8 小时内将血清分离到新的样品保存管（仪器配套耗材）内，置于-20℃及以下温度保存。-20℃保存不超过 3 个月，样品避免反复冻融。

4.运输：样本采用泡沫箱加冰袋或者干冰密封进行运输。

### 【检验方法】

本试剂盒搭载全自动核酸分析系统（AutoSAT）使用（可根据 AutoSAT 全自动核酸分析系统仪器操作手册进行适当调整）。

检测过程包括：250μL 待测样本与病毒核酸提取液混合；60℃孵育 10min；室温冷却杂交捕获；吸磁后弃除废液；使用洗涤液清洗磁性颗粒两次；含有纯净 RNA 靶标的磁性颗粒进入由扩增检测液 1、扩增检测液 2 和酶液组成的扩增检测液体系，42℃反应 40 分钟，实时采集荧光信号并进行分析。

具体检测程序如下：

1.仪器准备

启动 AutoSAT 全自动核酸检测分析系统和控制电脑，运行 AutoSAT 操作软件，根据 AutoSAT 操作软件提示设置仪器程序，将各耗材放置到仪器的对应位置。

2.试剂准备

2.1 将所有试剂温度平衡到室温（15~30℃），充分混匀，将试剂管外壁擦拭干净，试剂 B 各管开盖前需要适当离心，将管内试剂离心到底。

2.2 将洗涤液和矿物油小心转移至仪器指定的洗涤槽内。

2.3 按照软件提示将其余试剂及质控品移去管盖后，直接放入仪器指定槽位，并且扫描批次信息码，确保机器可以扫描到试剂信息。

2.4 将试剂架推入仪器对应位置。

3.样本准备

打开样本管盖，将待测样本置于 AutoSAT 样本架上，根据提示推入仪器进行条码扫描。

注意：冻存样本需待样本全部融化后混匀，再置于样本架上。

4.仪器运行

4.1 点击软件页面的“开始任务”按钮，仪器首先对校准物和质控品进行处理。

4.2 在以下两个条件中的任一个得到满足时仪器开始对样本进行移液检测：

- A、系统当前正在处理校准物和质控品。
- B、校准物和质控品的有效结果已录入系统。

注意：1、仪器运行过程中可随时将样本加载到样本架中，需暂停仪器后加载样本。

2.校准物和质控品在仪器运行 24 小时内有效，若移走或者更换试剂盒、关机后再开机，需要重新进行校准物和质控品检测。

## 5. 结果分析

用户可在 AutoSAT 全自动核酸检测分析系统软件中查看检测结果。

## 6. 质量控制

### 6.1 测定校准

要生成有效结果，必须完成测定校准。测定校准指对阳性校准物同时重复检测三次，校准物的验收标准会由系统中的软件自动验收，显示“有效”即通过验收。校准物在每天检测开始时首先进行检测，当天有效；当天若更换试剂盒，需重新进行测定校准。软件验证不通过时，需要考虑更换试剂盒，样本重新进行检测。

### 6.2 阴性质控品和阳性质控品

要生成有效的结果，必须测试一组质控品，包括阴性质控品、低阳性质控品和高阳性质控品。质控品的验收标准由软件自动验证。要生成有效结果，阴性质控品的结果必须是“未检出”，而阳性质控品的结果必须是“有效”。如果任一质控品存在无效结果，软件将自动作废本次试验，需要考虑更换试剂盒，样本重新进行检测。质控品在每天检测开始时与测定校准物一起进行检测，检测结果当天有效；当天若更换试剂盒，需重新进行质控品检测。

### 6.3 内标

每个样本都包含内标。在处理过程中，内标的验收标准由软件自动验证。如果内标结果无效，该样本结果作废。每个带有无效内标结果的样本都必须复检，以获取有效结果。

#### 【阳性判断值】

- 对最低检出限模拟样本和临床样本的检测和统计分析，利用ROC 曲线分析确定靶标阳性判断值为 $dt \leq 27.3$ ；
- 对大量定量上限模拟样本的重复检测，利用95%参考区间分析确定内标的阳性判断值 $dt \leq 30.6$ ；
- 内标为阳性时，结果有效；内标为阴性时，结果无效。

#### 【检验结果的解释】

系统通过比较结果和校准曲线自动确定样本和质控品 HBV RNA 的浓度。HBV RNA浓度报告的单位是copies/mL。结果解释在表1中提供。

表 1 结果解释

| 报告 HBV RNA 的测定结果 (copies/mL) | 解释                                                |
|------------------------------|---------------------------------------------------|
| 未检出                          | 未检出 HBV RNA                                       |
| 检出<100                       | 检出的 HBV RNA 水平低于定量下限                              |
| $10^2 \sim 10^8$             | 检出的 HBV RNA 浓度在 $10^2 \sim 10^8$ copies/mL 的线性范围内 |
| $>10^8$                      | HBV RNA 浓度高于定量上限                                  |
| 无效                           | 结果无效，该样本需要重新进行检测                                  |

#### 【检验方法的局限性】

- 本试剂盒的检测结果仅供临床参考，对患者的临床诊治应结合其症状/体征、病史、其他实验室检查及治疗反应等情况综合考虑。
- 不合理的样本采集、转运、储存及处理过程均有可能导致错误的检测结果。
- 该试剂仅限于规定的样本类型及适用机型。

#### 【产品性能指标】

- 本试剂盒为定量产品，线性范围为  $10^2$ copies/mL $\sim 10^8$ copies/mL；检测下限为 50 copies/mL。
- 本试剂盒可以检测 HBV A、B、C、D、E、F、G 和 H 基因型。基因型 A~H 经过了假病毒模拟样本验证，临床研究中进行了 B、C、D 型基因型的检测验证。
- 与感染部位相同或感染症状相似的其它病原体人类免疫缺陷病毒（HIV）、丙型肝炎病毒（HCV）、金黄色葡萄球菌（SA）、单纯疱

疹病毒 2 型(HSV-2)、柯萨奇病毒 A16 型（CA16）、E-B 病毒、甲型肝炎病毒、丁型肝炎病毒、梅毒螺旋体、白色念珠菌等无交叉反应。

- 普通 IFN $\alpha$  和聚乙二醇干扰素  $\alpha$  对本试剂盒检测不产生干扰；10mg/mL 及以下血红蛋白、30mg/mL 及以下甘油三酯对本试剂盒检测结果不产生干扰。
- 小于等于  $10^6$ IU/mL 的 HBV DNA 浓度对本试剂盒检测结果不产生干扰。
- 临床评价：在 4 家临床机构完成 1340 例样本的临床试验，与参比方法相比，阳性符合率为 100%、阴性符合率为 96.73%、总符合率为 98.96%；在  $100 \sim 1.0 \times 10^8$ copies/mL 范围内，本品与参比方法相比，结果经线性回归方程分析，二者无显著性差异。82 例慢性乙肝患者接受 Peg-IFN- $\alpha$  治疗 48 周的临床研究显示，使用治疗 24 周时血清 HBV RNA 的定量水平，预测停药后 24 周时 HBeAg 血清学转换，其阳性预测值为 60.0%，阴性预测值为 80.8%。

#### 【注意事项】

- 本试剂盒仅用于体外诊断。
- 由于本产品的检测靶标为 RNA，操作过程中应特别注意防止 RNase 对 RNA 的降解作用，请使用仪器配套耗材。在实验操作之前请操作人员戴上无粉手套、口罩，穿好实验服。
- 扩增检测液 2 对光敏感，在储存期间和使用准备期间应避免曝光。
- 试剂 B 应避免反复冻融。
- 操作过程的环境温度应控制在 15 $\sim$ 30 $^{\circ}$ C。
- 如果没有特别说明，请勿合并任何分析试剂或溶液。
- 洗涤液室温平衡后如果仍有白色絮状沉淀物，用之前应先 37 $^{\circ}$ C 加热，直至澄清。
- 酶在用之前要先离心，并将温度平衡至 42 $^{\circ}$ C。
- 所有临床样品都可能是潜在的污染源，操作应戴手套，使用过的试剂瓶等必需经无菌处理才可丢弃，进行分析操作时，应建立规范的器具操作和废物处理规程。妥善处置所有接触到标本和试剂的材料，彻底清洗并消毒所有操作台面。
- 仪器维护：每天实验结束后，将仪器中的剩余试剂取出，密封后，放在 2 $\sim$ 8 $^{\circ}$ C 保存，1 周内用完，将仪器下部的垃圾袋封口密封后移除。
- 试剂盒内校准物、质控品含有人源物质的组分，虽已通过乙型肝炎、人类免疫缺陷病毒、丙型肝炎等项目的检测为阴性，但截至目前，没有任何一项检测可以确保绝对安全，故仍应将这些组分作为潜在污染源对待。
- 临床实验室应严格按照《临床基因扩增实验室工作规范》配备设备及操作人员，应严格按照说明书要求进行操作。

#### 【参考文献】

- 《全国临床检验操作规程》（第四版）。

#### 【基本信息】

注册人/生产企业名称：上海仁度生物科技有限公司  
住所：上海市张江高科技园区东区瑞庆路 528 号 10 幢乙号 3 层 A 室  
联系方式：021-50720200  
传真：021-50720186  
网址：[www.rdbio.com](http://www.rdbio.com)  
售后服务单位名称：上海仁度生物科技有限公司  
联系方式：021-50720200  
生产地址：上海市张江高科技园区东区瑞庆路 528 号 10 幢乙号 3 层；上海市张江高科技园区东区瑞庆路 528 号 8 幢甲 6 层；上海市张江高科技园区东区瑞庆路 590 号 7 幢 301 室（PCR 检定）  
生产许可证编号：

#### 【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】

国械注准 20213400174

#### 【说明书核准日期及修改日期】

核准日期 2021 年 3 月 15 日。